BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian berjenis *desain pre-experimental* dengan rancangan *posttest only group design* yaitu penyimpanan suhu dingin selama 0 hari, 7 hari dan 14 hari dengan menggunakan turk modifikasi belimbing wuluh. Masing-masing perlakuan diulangi sebanyak 16 kali pemeriksaan.

3.2 Subjek Penelitian

Menurut penelitian Sari (2021), besar sampel ditentukan berdasarkan rumus *Federer* sebagai berikut:

 $(r-1)(t-1) \le 15$

 $(r-1)(2-1) \le 15$

 $1r-1 \le 15$

 $1r \ge 16$

 $r \ge 16/1$

 $r \ge 16$

Keterangan:

r = Jumlah Replikasi atau Pengulangan

t = Jumlah kelompok perlakuan

Sebanyak 16 kali pengulangan pada setiap kelompok perlakuan dalam penelitian ini yaitu pada 0 hari, 7 hari dan 14 hari terhadap hitung jumlah

leukosit menggunakan turk komersial dan turk modifikasi belimbing wuluh dengan 1 spesimen yang sama.

3.3 Variabel dan Definisi Operasional

3.3.1 Variabel Penelitian

- a. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah penyimpanan suhu dingin pada larutan turk modifikasi air perasan belimbing wuluh selama 0, 7 dan 14 hari.
- b. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil dari hitung jumlah leukosit.

3.3.2 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

| No | Variabel | Definisi | Alat Ukur | Skala Data | Hasil Ukur |
|----|--|---|---|---------------|---------------------|
| 1 | Lama waktu penyimpanan larutan turk modifikasi air perasan belimbing wuluh | Larutan turk modifikasi air perasan belimbing wuluh yang disimpan pada suhu dingin selama 0, 7 dan 14 hari | Kalender | Rasio | Hari |
| 2 | Hitung jumlah leukosit | Hitung jumlah leukosit menggunakan larutan turk komersial sebagai kontrol dan larutan turk modifikasi air perasan belimbing | Haemocytometer Improved Neubauer Dan Mikroskop | Interval | sel/mm ³ |

| | | wuluh yang | | | |
|---|--------------|-----------------|----------|---------|----------------------------------|
| | | disimpan | | | |
| | | pada suhu | | | |
| | | dingin | | | |
| | | berdasarkan | | | |
| | | waktu | | | |
| | | penyimpanan | | | |
| | | yaitu 0 hari, 7 | | | |
| | | hari dan 14 | | | |
| | | hari | | | |
| 3 | Uji kualitas | Uji kualitas | Visual | Nominal | - Perubahan |
| | fisik | fisik larutan | | | Warna |
| | reagensia | turk | | | - Ada Tidaknya |
| | | modifikasi air | | | Kekeruhan |
| | | perasan | | | Ada Tidaknya |
| | | belimbing | | | endapan/kristal |
| | | wuluh yang | | | - Perubahan Bau |
| | | disimpan | | | |
| | | pada suhu | pH Meter | Rasio | - Skala pH 1 - 14 |
| | | dingin selama | | | |
| | | 0 hari, 7 hari | | | |
| | | dan 14 hari | | | |

3.4 Bahan Penelitian

Bahan penelitian ini yaitu darah EDTA, buah belimbing wuluh, air perasan belimbing wuluh yang telah disaring, gentian violet 1%, aquades steril, larutan turk komersial, spuit 3cc, kertas label *handscoon* dan *cover glass*.

3.5 Instrumen Penelitian

Instrumen dalam penelitian ini yaitu *tourniquet*, pisau, tabung EDTA, tabung reaksi, *tube/vial*, pipet ukur, mikropipet Dragon Lab, Gelas Beaker 1000 ml, batang pengaduk, pump pipet, rak tabung, kamar hitung leukosit *Neubauer Improved Assistant Germany* dan mikroskop Sinher.

3.6 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.6.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Patologi Klinik Universitas Borneo Lestari.

3.6.2 Waktu penelitian

Waktu penelitian ini dilakukan pada bulan April tahun 2024.

3.7 Prosedur Pengambilan Data

3.7.1 Izin Penelitian

Dimulai dengan meminta izin penelitian pada pihak kampus Universitas Borneo Lestari, setelah mendapatkan izin dari pihak kampus kemudian meminta izin kepada kepala Laboratorium Patologi Klinik Universitas Borneo Lestari untuk izin tempat melakukan penelitian.

3.7.2 Prosedur Kerja

1. Determinasi belimbing wuluh

Determinasi tanaman dan buah di Laboratorium FMIPA
Universitas Lambung Mangkurat Banjarbaru.

2. Pengumpulan Air Perasan Belimbing Wuluh

Pada tahap awal, disiapkan 3 Kg belimbing wuluh yang masih segar tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu matang kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih, lalu dimasukkan ke dalam blender kemudian dihaluskan sampai didapatkan sarinya.

Sari belimbing wuluh yang telah diblender ditampung dalam Gelas Beaker, kemudian disaring menggunakan kertas saring.

3. Pembuatan Larutan Belimbing Wuluh

Setelah air perasan belimbing wuluh dikumpulkan, kemudian air perasan belimbing wuluh disaring menggunakan kertas saring sebanyak 2 kali.

4. Pembuatan Larutan Turk Modifikasi dengan Belimbing Wuluh

Pembuatan turk modifikasi belimbing wuluh diawali dengan air perasan belimbing wuluh yang telah disaring diencerkan dengan aquades steril dengan air perasan belimbing wuluh dipipet sebanyak 20 mL dan dilarutkan dalam 1 L aquades steril. Pengenceran air perasan belimbing wuluh dengan aquades steril dilakukan untuk menyamakan tingkat keasaman yang ada pada asam asetat glasial yang memiliki pH 2.4 pada larutan turk komersial. Disediakan 1 buah gelas ukur yang bersih, kemudian dipipet air perasan belimbing wuluh yang telah diencerkan sebanyak 15 mL menggunakan pipet ukur kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur, setelah itu ditambahkan gentian violet sebanyak 10 mL menggunakan pipet ukur, ditambahkan lagi aquadest steril sebanyak 100 mL menggunakan pipet ukur, diaduk hingga tercampur merata menggunakan batang pengaduk, dimasukkan ke dalam botol gelap untuk dilakukan pemeriksaan data segera dan yang disimpan pada suhu dingin. Dipisahkan menjadi 3 botol, 1 botol langsung

digunakan sebagai data hari 0, dan 2 botol disimpan pada suhu dingin selama 7 hari dan 14 hari.

5. Sampling Darah

Proses yang dilakukan pertama yaitu disiapkan tourniquet, tabung, kapas alkohol, kapas kering, spuit dan plester. Posisi lengan pasien lurus tidak bengkok, dipilih lengan yang sering beraktivitas, tangan diletakkan di atas meja kemudian lakukan perabaan (palpasi) terhadap vena yang akan ditusuk dan pasien diminta mengepalkan tangan dengan kuat. Tourniquet dipasang kurang lebih 3 jari di atas lipatan siku. Vena yang akan ditusuk di desinfeksi dengan kapas alkohol 70% dengan sekali usap diamkan sebentar hingga alkohol mengering. Bagian vena yang sudah di desinfeksi kemudian ditusuk dengan jarum menghadap keatas dengan kemiringan antara jarum dengan kulit 15°. Tourniquet dilepaskan setelah darah yang didapat memenuhi volume permintaan pemeriksaan kemudian pasien diminta untuk dibuka kepalan tangannya. Tarik jarum kemudian ditutup menggunakan kapas kering diatas bekas suntikan, bagian tersebut ditekan dan ditutup menggunakan plester. Sampel darah dipindahkan dari spuit ke tabung EDTA dengan cara jarum dilepaskan kemudian darah dialirkan melewati dinding tabung. Darah dihomogenkan dengan cara tabung dibolak-balikan beberapa kali (Ridwan, et al., 2021).

- 6. Uji Mutu Larutan Turk Modifikasi Air Perasan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) berdasarkan waktu penyimpanan
 - 1. Uji Kualitas Fisik Reagensia

Dilakukan pengamatan uji kualitas fisik turk modifikasi belimbing wuluh yang disimpan pada suhu dingin selama 0 hari, 7 hari dan 14 hari dengan parameter reagensia terhadap warna, bau, kekeruhan, pH dan ada tidaknya endapan/kristal.

2. Hitung Jumlah Leukosit Menggunakan Larutan Turk Modifikasi Air Perasan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi*) Yang Disimpan Pada Suhu Dingin Berdasarkan Waktu Penyimpanan

Disiapkan alat dan bahan. Ditentukan pengenceran diinginkan. Pengenceran yang digunakan dalam yang pemeriksaan hitung jumlah leukosit biasanya pengenceran 20×. Jika ingin membuat pengenceran 1 mL, larutan turk dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 950 µL dan dimasukkan ke dalam tabung. Darah dikocok agar homogen, darah dipipet menggunakan mikropipet sebanyak 50 µL dan dicampurkan ke dalam larutan turk. Kaca penutup diletakkan di atas kamar hitung. Campuran darah dan larutan turk dipipet secukupnya dengan sebelumnya tabung dikocok agar tetap homogen dan dimasukkan ke kamar hitung dengan ujung tip disentuhkan ke pinggiran kaca penutup dan diteteskan secara perlahan hingga seluruh chamber kamar hitung terisi dengan tepat (tidak merembes). Didiamkan beberapa saat untuk memberikan kesempatan sel untuk memasuki kamar hitung. Diperiksa dibawah mikroskop perbesaran okuler $10\times$ dan objektif $10\times$ serta okuler $10\times$ dan objektif $40\times$ untuk memperjelas bayangan. Sel akan tampak bulat biru kehitaman dengan inti. Dihitung semua sel leukosit pada 4 kamar besar.

Perhitungan jumlah sel menggunakan rumus:

 $Jumlah \ sel = \underline{jumlah} \ \underline{sel} \ \underline{yang} \ \underline{ditemukan} \times \underline{faktor} \ \underline{pengenceran}$ volume

(Nazarudin, 2019).

3.8 Pengumpulan Data

3.8.1 Data Primer

Data yang didapatkan pada penelitian ini berasal dari perhitungan jumlah leukosit.

3.9 Cara Pengolahan dan Analisa Data

3.9.1 Pengolahan Data

- Coding data yaitu hasil hitung jumlah leukosit diberi kode agar tidak terjadi kekeliruan pada saat melakukan tabulasi data.
- 2. *Tabulasi* data yaitu pengelompokkan hasil berdasarkan waktu penyimpanannya.
- 3. *Entry* data yaitu dimasukkan hasil hitung jumlah yang didapat menggunakan bantuan komputer
- 4. *Pengecekan Data* yaitu *crosscek* kembali untuk mengetahui ada tidaknya kesalahan dalam *entry* data

3.9.2 Analisa Data

Data diolah dan disajikan dalam bentuk tabel. Data diperiksa dengan program IBM SPSS statistics 26. Dilakukan Uji Normalitas dan homogenitas data untuk mengetahui apakah data dari hitung jumlah leukosit menggunakan turk modifikasi belimbing wuluh pada suhu dingin selama 0 hari, 7 hari dan 14 hari berdistribusi normal atau tidak. Uji Normalitas menggunakan Shapiro Wilk dan Uji Homogenitas menggunakan Levene's test. Jika data yang didapat berdistribusi normal dilanjutkan dengan Uji Paired sample t-test, jika data yang didapat tidak berdistribusi normal menggunakan Wilcoxon signet rank. Uji Wilcoxon digunakan sebagai alternatif dari Paired sample t-test.